

УДК 666.9

doi:10.20998/2413-4295.2017.53.15

СИНТЕТИЧНІ НАНОКРИСТАЛІЧНІ КАЛЬЦІЙФОСФАТНІ МАТЕРІАЛИ ДЛЯ ВОСПОВНЕННЯ ДЕФЕКТІВ КІСТКОВИХ І НЕСТАЧІ М'ЯЗОВИХ ТКАНИН ТА ЇХ СИНТЕЗ

С. П. КРИВІЛЬОВА

кафедра хімічної техніки і промислової екології, НТУ «ХПІ», м. Харків, УКРАЇНА
email: spkri@ukr.net

АНОТАЦІЯ Виконано оцінку можливості використання нанокристалічних матеріалів кальційфосфатного складу для заповнення дефектів кісткових тканин та у якості неорганічних наповнювачів композиційних матеріалів для восповнення нестачі м'язових тканин. Визначено склад кальційфосфатних матеріалів та оптимальне співвідношення компонентів. Встановлено, що біокераміка може бути отримана термообробкою при температурі 1100 – 1200 °С суміші нанокристалічних порошків попередньо синтезованих компонентів. Виявлено позитивний вплив домішки стеарату магнію на низькотемпературну активацію процесу синтезу нанокристалічних структур. Методами електронної мікроскопії та атомно-емісійного спектрального аналізу досліджено мікроструктури матеріалів і динаміку концентрації мікро- і мікроелементів в органах і тканинах в процесі їх резорбції in vivo. Встановлено, що за своїми технічними і біологічними властивостями ці матеріали можуть бути використані для поповнення дефектів кісткових та нестачі м'язових тканин.
Ключевые слова: синтетичні нанокристалічні матеріали; біорезорбція; кальційфосфати; електронна мікроскопія; восповнення дефектів; атомно-емісійний спектральний аналіз

SYNTHETIC NANOCRYSTALLINE CALCIUM PHOSPHATE MATERIALS FOR FACING DEFECTS OF BONE AND INSUFFICATION OF MUSCULAR TISSUE AND THEIR SYNTHESIS

S. KRIVILEVA

Department of "Chemical Technics and Industrial Ecology" NTU "KhPI", Kharkiv, UKRAINE

ABSTRACT An assessment was made of the possibility of using nanocrystalline materials of calcium phosphate composition to fill defects in bone tissues and as inorganic fillers of composite materials to fill the lack of muscle tissue. Optimum compositions and firing temperatures of synthetic nanocrystalline materials have been determined which have a controlled rate of bioresorption, increased resistance to dissolution by body fluids, and also with controlled pathways for the withdrawal of metabolites. It is established that bioceramics can be obtained at a temperature of 1100 - 1200 °C of a mixture of nanocrystalline powders of previously synthesized components: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, $\text{Mg}(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_2$. A positive effect of the $\text{Mg}(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_2$ impurity on low-temperature activation of the synthesis of nanocrystalline structures. Specific features of the process of bioresorption of the developed calcium phosphate materials have been established. Changes in the surface of samples after in vivo tests by electron microscopy were studied. The dynamics of the content of metabolites of synthesized materials and microelements in organs and tissues in vivo is established. An increase in the calcium content in the kidneys and liver of experimental animals was detected. This indicates the ways of withdrawal of bioresorption products. It is determined that synthesized materials are promising for tissue engineering. Due to their chemical composition and biological properties, they can be used to fill defects in bone tissues and as inorganic fillers of fillers to compensate for the lack of muscle tissue. The introduction of the developed technology will help solve the problem of providing modern materials with restorative surgery. At the same time, this will improve the quality of life of a large number of people with pathological or age-related loss of muscle tissue or skeletal tissue.

Keywords: synthetic nanocrystalline materials; bioresorption; calcium phosphate; atomic-emission spectral analysis; engineering of fabrics; electron microscopic analysis.

Вступ

Неухильне зростання попиту на штучні заміники біологічних тканин у всьому світі пов'язано не тільки зі збільшенням кількості аварій і катастроф і необхідністю заміни втрачених в цих катастрофах та аваріях органів, але і зі збільшенням тривалості життя і в наслідок цього – з загальним старінням населення.

У найближчі роки очікується масове збільшення кількості людей похилого і старечного віку. Коли в них почнуть проявлятися дефекти кістково-суглобової системи (а зазвичай це починається після 60-ти років), це призведе до різкого

збільшення кількості пацієнтів, що потребують допомоги спеціалістів відновлювальної хірургії.

Людство чекає майже епідеміологічне збільшення кількості людей, яким буде необхідно восповнення дефектів різних відділів кістково-суглобової системи або ж повної заміни її пошкоджених ділянок. Постає питання підвищення якості життя величезної кількості людей. Тому попит на матеріали, що здатні використовуватися в якості заміників пошкоджених кісткових тканин і для поповнення нестачі м'язових тканин, що втрачені через перебіг того чи іншого патологічного процесу, а тому мають бути відновлені, буде неухильно зростати.

Стрімке старіння населення вже призвело до бурхливого розвитку вікової медицини і відновлювальної косметології. В цій отрасли теж очікується значне збільшення попиту на відновлювальні процедури і як слідство, потреба в матеріалах для них. Наприклад, для пацієнтів старшої вікової категорії характерні суттєві втрати м'яких тканин. Тому попит на матеріали, які здатні відновити втрачені об'єми м'яких тканин, буде зростати.

Сучасна біоінженерія зробила величезний крок вперед у напрямку створення штучних замінників пошкоджених тканин [1]. Головною їх особливістю є здатність на протязі тривалого часу без суттєвих негативних наслідків знаходитись у корозійно-агресивному середовищі живого організму і в тій чи іншій мірі воспоновувати дефекти кістково-суглобової системи [2,3]. Але матеріали, які б повною мірою відповідали всім вимогам не гірше за свої природні аналоги [4], все ще не створені. Їх створення - складна матеріалознавча проблема, яка може бути вирішена тільки на стику декількох наук: хімії, медицини і матеріалознавства.

Але крім неї необхідно вирішити ще і соціальну проблему – доступності сучасних матеріалів останнього покоління. Сьогодні переважна більшість розроблених біоматеріалів мають статус експериментальних з усіма юридичними наслідками, що випливають з цього факту. Саме через це всі вони дорого коштують у застосуванні. Знизити їх ціну до прийнятного для масового попиту рівня законодавчим шляхом (з юридичної точки зору) неможливо. Кардинальне зниження собівартості можливе тільки при переході на поточне виробництво потужними фармацевтичними концернами (натомість випуску малими партіями в окремих дослідницьких лабораторіях). Це зробить доступними сучасні матеріали і технології широким верствам населення, включаючи людей літнього віку, і дозволить таким чином вирішити цю актуальну проблему соціальної екології і відновлювальної хірургії, яка постане перед людством у найближчі роки.

Аналіз літературних даних та постановка проблеми

Сучасне біоматеріалознавство здатно запропонувати відновлювальній хірургії широкий спектр матеріалів – від металів (у тому числі зі спеціальних покриттям), керметів, композиційних матеріалів на основі високомолекулярних сполук до оксидної скло- і біокераміки, гелів, цементів і спецматеріалів для адресної доставки специфічних медикаментів у проблемні зони [5 - 9]. Всі вони прийшли на заміну аутоімплантатам, використання яких поступово знижується через певні труднощі, які пов'язані з їх обмеженими розмірами, ризиком неконтрольованої резорбції, а отримання - з нанесенням додаткової травми. Не зважаючи на те, що з біологічної точки зору вони є ідеальним матеріалом

для імплантатів, вони не можуть бути використані у людей з системними порушеннями кісткової системи, похилого віку і дітей. Ксеноімплантати від донорів та спецдонорів, які здатні привносити з собою аутоімунні пошкодження і інфекції (незважаючи на сучасні методи консервації) вже майже не мають майбутнього.

У напружених областях скелету знайшла своє використання інертна біокераміка на основі корунду і діоксиду цирконію.

Унікальну біологічну сумісність по відношенню до тканин організму виявляють матеріали на основі фосфатів кальцію [10]. Саме вони у останні два десятиліття знайшли широке використання у відновлювальній хірургії кістково-суглобової системи і хірургічній стоматології [11-16]. Основним видом фосфатно-кальцієвої кераміки, що сьогодні використовується, є остеопластичні матеріали на основі гідроксилапатиту і трьохкальцієвого фосфату. Ультрадисперсний біогенний гідроксилапатит, склад якого відповідає формулі $\text{Ca}_{10-x-y/2}(\text{HPO}_4)_x(\text{CO}_3)_y(\text{PO}_4)_{6-x-y}(\text{OH})_{2-x}$, є неорганічною складовою кісткової тканини і тканини зубів людини. Широкий спектр вітчизняних і закордонних досліджень присвячений розробці біокерамічних матеріалів на основі гідроксилапатиту біогенного походження, отриманого з бичачої кістки, з кісток свиней, з коралів, з шкарлупи курячих яєць [17-18]. На ринку представлений, наприклад, «Bio-Oss» (Geistlich, Швейцарія), отриманий з бичачої кістки, і гідроксилапатит, отриманий з кісток свиней виробництва Ізраїлю. Вітчизняні розробки, що стосуються матеріалів з попелу кісток тварин, досягли досить приголомшливих успіхів по відтворенню не тільки новітньої кістки, але і кровоносних судин і кісткового мозоку [19]. Особливістю структури всіх цих гідроксилапатитів є щільно упаковані кристали і мікропориста поверхня, яка уповільнює їх біорезорбцію і остеорепаративні процеси. Але всім цим матеріалам притаманна така особливість, як алергенний відклик. Це створює досить значні ризики для при їх використанні. Окрім того, завадати їх масовому використанню можуть певні упередження, в першу чергу релігійні. Тому у хірургії кістково-суглобової системи людини і у відновлювальній хірургії все ширше використовують синтетичні нанокристалічні кальційфосфатні матеріали різного складу. З усіх кальційфосфатних матеріалів саме матеріали на основі апатитів і $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ виявляють унікальну біологічну сумісність по відношенню до всіх тканин організму. Реакція гіперчутливості на введення синтетичних матеріалів на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ розвивається менш ніж у 0,8 % популяції. З цієї причини вони є найважливішими компонентами біоматеріалів, що застосовуються у відновлювальній хірургії. З [20-22] відомо, що матеріали на основі гідроксилапатиту, розмір кристалів яких складає від 10 до 500 мкм є не тільки остеоіндуктивними; вони також сприяють формуванню фібробластів – дермальних волокон, а також кровоносних судин. Метаболітами

гідроксиапатиту є іони кальцію і фосфору, які в нормі завжди містяться в організмі. Імпланти з керамічних матеріалів, що містять гідроксиапатит, при випробуваннях як *in vitro*, так і *in vivo*, показали мінімальні запальні реакції або їх відсутність, а також мінімальні запальні реакції або їх відсутність, а також відсутність системної токсичності [23-25].

Одним з перших клінічних застосувань гідроксиапатиту було його використання у якості трансплантатів для регенерації кісток і застосування в стоматології. Сьогодні $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ використовується в ортопедичній хірургії у якості кісткового цементу і при травмах у щелепно-лицевій хірургії [29]. Наповнювачі на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ використовуються при нетриманні сечі і для лікування міхурово-сечовивідникового рефлюксу [30, 31], при ларінгеальній недостатності [32], при аугментации голосових зв'язок [33], і навіть при компресійних переломах хребта [34].

Кальційфосфатні матеріали на основі гідроксиапатиту $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ і трьохкальцієвого фосфату $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ знаходять застосування і у якості імплантатів для м'яких тканин. Порожнини, що залишаються після виділення патологічно змінених м'язових тканин, необхідно заповнювати матеріалами, які є сумісними з прилеглими живими тканинами, що залишилися, і сприяють відновленню організму в найкоротші терміни. Для цих цілей використовують біокерамічні матеріали на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і домішок, що призначені для додання їм антимікробних властивостей, наприклад з колоїдним сріблом або такі, в яких іони кальцію заміщені сріблом [35]. Різке збільшення чисельності людей похилого віку призвело до бурхливого розвитку вікової медицини. Її пацієнтами стають переважно здорові люди похилого віку з відповідними віковими пошкодженнями м'язових тканин, що поступово втрачають об'єми. Для відновлення і збільшення об'єму непошкоджених м'язових тканин у віковій медицині широко використовується ін'єкційні дермальні наповнювачі. Ідеальними неорганічними імплантатами для м'яких тканин є ті, які не викликають алергічних реакцій, мають високу біосумісність з живими тканинами, є довговічними і не мають нахилу до мігрування в організмі. Практично всім цим вимогам відповідають все ті ж кальційфосфатні синтетичні матеріали оскільки відомо, що при підшкірному введенні синтетична кальційфосфатна кераміка на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ і $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ є біосумісною [21]. Реакція гіперчутливості на введення матеріалів на основі ГА розвивається менш ніж у 0,8 %. Але використання цих матеріалів не є абсолютно безпечним. Чим більше термін перебування імплантованого матеріалу в організмі, тим вище ймовірність виникнення ускладнень. Справжня поширеність несприятливих наслідків від їх застосування невідома, оскільки багато ускладнень залишаються незареєстрованими [24].

На сьогоднішній день на ринку представлено більш 200 дермальних наповнювачів [22]. Всі вони біологічно руйнуються і мають тривалість дії в середньому 6 - 18 місяців. Самий тривалий термін перебування в організмі мають дермальні філери з неорганічними наповнювачами на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ і молочної кислоти, які є незворотніми (тобто вони не мають протидоту і при невдалому результаті не можуть бути нічим зруйновані). Ці філери мають високу в'язкість і вводяться в глибокі шари дерми для відновлення або збільшення обсягу м'яких тканин обличчя [26-28, 32]. Основним компонентом дермальних філерів є частки (мікросфери) синтетичного гідроксиапатиту діаметром від 25 до 45 мкм, що знаходяться в гелі-носії, який в основному складається з гліцерину. Структура гелю формується шляхом додавання невеликої кількості карбоксиметилцелюлози [2]. Для підтримки оптимального рівня рН використовується фосфатний буфер. Мікросфери гідроксиапатиту утворюють каркас, навколо якого фібробласти регенерують колагенові волокна, які поступово замінюють гелі-носії, що біодеградує [22, 36]. Усі дермальні наповнювачі викликають реакції м'яких тканин і фіброз [23]. Мікросфери $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (при введенні в дерму) стимулюють роботу фібробластів, забезпечуючи синтез колагену. Вони утворюють своєрідний каркас, навколо якого формується новий дермальний матрикс.

Біокерамічні матеріали на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, і $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ є речовинами, що біорезорбують. Продукти їх біорезорбції слідує тим же шляхом метаболізму, що і кісткові осколки, які утворюються при загальних переломах кісток: макрофаги поступово руйнують частинки кальційфосфатного матеріалу з утворенням іонів кальцію і фосфора, які є метаболітами гідроксиапатиту і завжди містяться в організмі. Згодом продукти розпаду неорганічного наповнювача повністю виводяться з організму. Цей процес відбувається до тих пір, поки не досягне повного фагоцитозу [2].

Взагалі процес резорбції кісткової тканини здійснюється остеокластами, які гідролізують білковий матрикс і розчиняють мінеральну складову живої кістки. Так само остеокласти розчиняють і імплантовані матеріали. Після фази резорбції і реверсії (яка є перехідним періодом) остеобласти заново образують немінералізований органічний матрикс нової кістки (остеоїд), який поступово мінералізується. Але на сьогоднішній день навіть достійменно невідомо, чи кристалізується біогенний апатит у місці росту кістки відразу, чи це відбувається послідовно через кристалізацію однієї чи декількох провідних фаз.

З моменту початку використання кальційфосфатних матеріалів у медицині підхід до їх використання змінився. Прийнята сьогодні регенераційна концепція передбачає, що біоматеріали виконують роль активного джерела елементів,

необхідних для побудови кісткової тканини [16]. Такий підхід вимагає певної швидкості процесу біорезорбції і накопичення метаболітів якому-небудь «депо» в організмі як бази для формування нової кістки. Від матеріалів для восповнення нестачі м'язових тканин, навпаки, вимагається стала і підвищена стійкість до розчинення тканинними рідиними організму. Це викликає необхідність розробки матеріалів з регульованою кінетикою розробції і керованим рухом їх метаболітів.

Біорезорбція і мінеральної складової кісткової тканини, і синтетичних біоматеріалів, як і весь цикл ремоделювання живої кістки - дуже складний процес, що здійснюється особливими клітинами. Він залежить від рН середовища і одночасно регулюється концентрацією статевих гормонів, щитовидної залози, метаболітів вітаміну D, інсуліну, залежить від віку та стану організму і т.і. Сьогодні розробники здебільшого заміняють дослідження біорезорбції матеріалів остеокластами в *in vivo* (в умовах живого організму) вивченням їх розчинності *in vitro* у модельних середовищах (в замкнутій системі чи при імітації відкритої системи), наприклад, у слабкислому розчині з рН 5,5 [16], хоча це є тільки першим наближенням. *In vitro* у процесі резорбції не беруть участь остеобласти, відрізняється швидкість і інтенсивність процесу, неможливо вивчити динаміку фонду мікроелементів в органах та тканинах, визначити шляхи виводу з організму того чи іншого продукту біорезорбції і повною мірою оцінити вплив імплантованого матеріалу на стан організму. Тому необхідною умовою розробки ефективних біоматеріалів з регульованою швидкістю біорезорбції, які відповідають вимогам, що ставляться до них рівнем сучасного біоматеріало-знавства, є вивчення цього процесу на піддослідних тваринах.

Ціль та задачі дослідження

Цілью цього дослідження є розробка синтетичних нанокристалічних кальційфосфатних матеріалів з регульованою кінетикою біорезорбції і оцінка можливості їх використання для восповнення дефектів кісткових тканин і нестачі м'язових тканин у відновлювальній хірургії.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити **наступні задачі**:

Визначити оптимальні склади і температури випалу синтетичних нанокристалічних матеріалів як з регульованою швидкістю біорезорбції, так і з підвищеною стійкістю до розчинення тканинними рідиними організму, і керованими шляхами виводу метаболітів.

Дослідити біорезорбцію розроблених кальційфосфатних матеріалів шляхом вивчення зміни поверхні зразків після випробувань *in vivo* за допомогою електронної мікроскопії.

Дослідити накопичення метаболітів розроблених кальційфосфатних матеріалів в організмі

(як бази для формування нової кістки), а саме вивчити динаміку вмісту мікроелементів в органах і тканинах (в серці, нирках, печинці, легенях, головному мозку, та селезінці) піддослідних тварин.

Матеріали та методи дослідження

4. 1. Досліджувані матеріали та обладнання

У представленому дослідженні були використані нанопорошки $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, які були власноруч синтезовані. Для цього використовували $\text{Ca}(\text{OH})_2$ і CaF_2 марок «х.ч.» і «ч.д.а», пентоксид фосфору у вигляді ортофосфорної кислоти марки «ч.д.а.», стеарат магнію $\text{Mg}(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_2$ (ТУ 6-09-16-1533-90) вода дистильована (ГОСТ 6709-72).

$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ отримували з розчинів $\text{Ca}(\text{OH})_2$ і H_3PO_4 в дистильованій воді шляхом їх перемішування впродовж 8 годин і витримки впродовж 170 годин при кімнатній температурі для старіння, забезпечуючи досягнення співвідношення $n(\text{Ca}^{2+})/n(\text{PO}_4^{3-}) = 1,67$.

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ високої чистоти синтезували з H_3PO_4 і $\text{Ca}(\text{OH})_2$ марок «ч.д.а.» і «х.ч.» в твердій фазі шляхом триазового випалення таблетованих сумішей при температурі 1150 – 1250 °С з витримкою впродовж 2 годин і проміжним подрібненням при багатоступінчастому підйомі температури із швидкістю 120 – 150 °С в годину.

$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ отримували з CaF_2 і попередньо синтезованого $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ у твердій фазі випаленням у температурному діапазоні 1200 – 1250 °С з витримкою впродовж 3 годин з подальшим подрібненням.

Для формування зразків використовували гідралічний прес TP 20/40/60-2d і сталі пресформи. Для спікання зразків використовували високотемпературну камерну піч з Si-C нагрівачами, з повітряною атмосферою. Для контролю температур використовували платино-родієві термопари ПП-10th,90-Rt.

Фазовий склад матеріалів контролювався методом рентгенофазового аналізу на установках «Drone-3» і «Drone-3». Для вивчення динаміки вмісту мікроелементів в органах та тканинах піддослідних тварин (внаслідок біорезорбції кераміки) використовували спектрометр «Сатурн-1». Петрографічні дослідження проводили на поляризаційному мікроскопі МІН-8.

Відкриту поруватість і щільність зразків визначали гідростатичним зважуванням відповідно до ГОСТ 2409-95. Міцність на вигін визначали стандартним методом відповідно до ДСТУ 3716-98. Електронно-мікроскопічні дослідження проводили за допомогою скануючого електронного мікроскопа мікроскопі Carl Zeiss, Німеччина.

4. 2. Методика визначення показників властивостей

Співвідношення Ca/P в пробах при синтезі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ контролювали за допомогою

хімічного аналізу. Усереднювання шихт проводили гомогенізацією у барабані кулькового млина або розтиранням у ступці. Формування зразків циліндричної форми проводили методом одноосного одно- та двостороннього холодного пресування при тиску 50 – 200 МПа. Фазовий аналіз вихідних матеріалів, прокурсорів і отриманої кальційфосфатної кераміки, а також фазовий склад поверхні після випробувань *in vivo* контролювали методом рентгенофазового аналізу (на установках «Drone-2» і «Drone-3»; розшифровка здійснювалась по довідкових таблицях ASTM на зразках препаратів вигляді пігулок діаметром 10 мм і завтовшки 2 мм. Мінералогічний склад при отриманні вихідних кальційфосфатних матеріалів, морфологію і розмір часток після випалу, характер поверхні зразків після випробувань *in vivo* визначали за допомогою електронномікроскопічних досліджень методом двохступневих самовідтінених целюлозо-вугільних реплік та реплік із добуванням, електронографії та мікродіфракції.

Відкрити поруватість і щільність зразків визначали гідростатичним зважуванням відповідно до ГОСТ 2409-95. Міцність на вигін визначали стандартним методом відповідно до ДСТУ 3716-98. Випробування тріщиностійкості проводили на випробувальній машині на зразках з прямим боковим надрізом при швидкості навантаження 0,5 мм/хв.

Визначення рівня резорбції розроблених матеріалів проводили *in vivo*. Для цього їх імплантували піддослідним тваринам на срок до 28 діб всередину очеревини; після чого матеріали доставали з очеревини і вивчали втрати маси, після чого двічі промивали, висушували і вивчали методом вугільних реплік.

Вивчення динаміки вмісту мікроелементів в органах та тканинах піддослідних тварин проводили атомно-абсорбційним методом (на спектрометрі «Сатурн-1») на безпородних самцях білих щурів масою 250 - 300 г, яким ці матеріали були імплантовані на срок від 7 до 28 діб всередину очеревини і які отримували його перорально у дозі 300 мг/кг ваги. Вивчали вміст Cu, Zn, Mg, K, Na, Ca, Fe, P серці, нирках, печинці, легенях, головному мозку, та селезінці.

Результати отримання показників

Результати хімічного аналізу продуктів синтезу $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ показали, що співвідношення Ca/P в пробах близьке до стехіометричного (1,67). За даними аналізів продукт синтезу є нанокристалічним гідроксилапатитом і характеризується розміром кристалів від 25 до 60 нм. В процесі синтезу було визначено, що для синтезу $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ високої чистоти не підходить $\text{Ca}(\text{OH})_2$ марки «ч» (комерційний продукт, присутній на ринку), який містить побічні фази, бо це призводить до появи небажаних домішок у його складі. Показана необхідність попереднього

синтезу трьохкальцієвого фосфату $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ високої чистоти; це може бути забезпечено використанням $\text{Ca}(\text{OH})_2$ марок «ч.д.а.» або «х.ч.» і ортофосфорної кислоти тієї ж кваліфікації. Визначено оптимальне співвідношення компонентів з урахуванням летючості сполучень фосфору, що використовуються, і режими термообробки шихт. Результати РФА свідчили, що продуктами синтезу $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ є монофазними нанокристалічними матеріалами високої чистоти.

З метою розробки кальційфосфатної кераміки з регульованою кінетикою біорезорбції були синтезовані кальційфосфатні матеріали на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і домішок $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ і $\text{Mg}(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_2$ при різних співвідношеннях компонентів (у діапазоні 3 - 60 мас. %). Їх формували холодним ізостатичним пресуванням при тиску 120 - 200 МПа і термообробляли в діапазоні температур 1150 - 1200 °С.

Рентгенографування проб зразків показало, що основними кристалічними фазами в них є $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; підвищення вмісту $\text{Mg}(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_2$ понад 10 мас. % в окремих випадках призводило до появи ліній періклазу. Встановлено, що при прискореному охолодженні змінюються загальна тривалість і темп кристалізації, а також температура початку кристалізації різних верств зерен і відносна кількість фазових складових препаратів.

Встановлені залежності фізико-хімічних властивостей зразків кальційфосфатних матеріалів від їх складу і температури показали, що міцність на стиснення зразків підвищується з підвищенням вмісту $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ майже до 50 МПа для деяких зразків, але на тріщиностійкість у повітрі це майже не впливає. Але у вологому корозійно-агресивному середовищі живого організму міцність зразків матеріалів таких складів вище, що обумовлено їх меншою біорезорбцією.

Мінералогічний склад зразків матеріалів визначали методом двохступневих самовідтінених целюлозовугільних реплік. На рис. 1 і 2 наведені електронномікроскопічні фотографії мікроструктури матеріалів на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ оптимальних (з точки зору біосумісності і фізико-механічних властивостей) складів, які були випалені при 1200 °С.

Для визначення рівня біорезорбції розроблених матеріалів їх імплантували піддослідним тваринам на срок до 28 діб всередину очеревини. Втрати маси при цьому склали 0,1 – 1,38 мас. % для матеріалів на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ і майже в 3 – 4,5 рази вище для матеріалів на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Домішки $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ суттєво знижували втрати маси майже у всьому діапазоні концентрацій. Біорезорбцію розроблених кальційфосфатних матеріалів досліджували шляхом вивчення за допомогою електронної мікроскопії зміни поверхні зразків після їх випробувань *in vivo*. Для цього розроблені матеріали були імплантовані безпородним білим щурам вагою 250 - 300 г на срок від

7 до 28 діб всередину очеревини. На рис. 3 – 8 представлені мікроструктури матеріалів після 7, 14, 21 і 28 діб випробувань *in vivo*. Після цього було досліджено накопичення метаболітів розроблених кальційфосфатних матеріалів в організмі, які можуть розглядатися у якості бази для формування нової кістки. Було вивчена динаміка вмісту мікроелементів (Cu, Zn, Mg, K, Na, Ca, Fe, P) в органах і тканинах (серці, нирках, печинці, легенях, головному мозку, селезінці) піддослідних тварин, яким була імплантована біокераміка. Динаміка фонду мікроелементів у піддослідних тварин наведена у табл. 1. Було проведено повний комплекс медико-біологічних досліджень кальційфосфатних матеріалів, що були синтезовані за раніш описаними методами [37,38].

Обговорення результатів дослідження

Аналіз мікроструктури синтезованих кальційфосфатних матеріалів виявив, що всі образці характеризуються однорідною мелкозернистою мікроструктурою. Зразки обох складів (і на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, і на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) мають невелику рівномірну розподілену поруватість. Аналіз параметрів мікроструктури матеріалів показує, що використання $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ і стеарату магнію $\text{Mg}(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_2$ (ТУ 6-09-16-1533-90) дозволяє досягти поставленої мети – сформувати рівномірну зернисту структуру зі зниженою схильністю до межкристалічної корозії в фізіологічному середовищі в цілому і в міжфазному шарі. Отримана нанокристалічна структура матеріалів забезпечує їх поліпшені механічні і остеointегративні властивості у порівнянні з великокристалічним біокерамічним матеріалом.

Отримані результати визначення показників фізико-механічних властивостей розроблених матеріалів вказують на загальну тенденцію зростання уявної щільності і зниження відкритої поруватості зразків з підвищенням температури випалу і вмісту $\text{Mg}(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_2$, і як наслідок – зниження швидкості біорезорбції.

Аналіз мікроструктури зразків матеріалів на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ показує, що вони мають дрібнокристалічну рівномірнозернисту структуру (рис. 2). На деяких зразках спостерігаються межзернові тріщини, що закінчуються мікропорами. Коломофна маса, що немає форми, відсутня. Увесь об'єм зразка заповнений щільною структурою. Кристали матеріала, який випалювали при 1200 °С, мають більш чітку кристалографічну органку порівняно з тим матеріалом, який випалювали при 1100 – 1150 °С. На структурі зразків матеріалів основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ видно ділянки зі ступенями росту на кристалах, які мають прихованоблочну структуру (рис.1).

Забезпечення необхідної кінетики розробки рідинами організму може бути отримано збільшенням

вмісту іонів магнію в структурі матеріалу, а саме синтезом керамічних кальційфосфатних матеріалів, що містять іони Mg^{2+} (оскільки зниження вмісту магнію в кістковій тканин завжди призводить до апластична порушень). Однак це завдання ускладнюється тим що магній дестабілізує структуру гідроксиапатиту сприяючи кристалізації $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Синтезовані матеріали були імплантовані безпородним білим щурам на срок від 7 до 28 діб всередину очеревини. Як видно з наведених фотографій (рис. 3 – 8), швидкість біорезорбції помітно відрізняється: для матеріалів на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ вона значно перевищує швидкість біорезорбції матеріалів на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$: вже після 7 діб знаходження в організмі піддослідних тварин мікроструктура матеріала де що змінюється: на поверхні з'являються окремі дрібні ямки розчинення, деякі мікротріщини розширюються (рис. 3). Для матеріалів на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ скільки небудь помітні зміни мікроструктури з'являються тільки після 28 діб їх перебування в організмі піддослідних тварин. На цей час мікроструктура матеріалу на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ кардинально змінюється: окремі дрібні ямки глибшають і покривають всю поверхню. Мікротріщини значно розширюються і зливаються, що є свідомством резорбції матриксу.

Отримані результати визначення показників втрати маси розробленими матеріалами вказують на загальну тенденцію зменшення показників втрати маси і зниження швидкості біорезорбції у зв'язку зі збільшенням дисперсності їх структури, кількості кристалів $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ і іонів Mg^{2+} у структурі матеріалу.

Вивчення динаміки фонду мікроелементів у піддослідних тварин виявило зміну їх динаміки. Так, матеріал на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ підвищує вміст Cu, An, Mg, і Ca у печинці; в нирках – Zn; у головному мозку Zn і Na; в легенях – Zn і Ca; в селезінці – Mg і Fe; знижує в серці вміст Ca, а в нирках, легенях і головному мозку – Mg. Причому значно більш інтенсивно, ніж матеріал на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, який теж підвищує вміст Cu, An, Mg, і Ca у печинці; в нирках – Zn; у головному мозку Zn і Na; в легенях – Zn і Ca; в селезінці – Mg і Fe; знижує в серці вміст Ca, а в нирках, легенях і головному мозку – Mg. У більшості випадків спостерігалось підвищення вмісту мікроелементів у всіх органах і тканинах, що, ймовірно, пов'язано з інтенсивною біорезорбцією імплантованих матеріалів. Виявлене значне підвищення вмісту кальцію у нирках і печинці піддослідних тварин свідчить про головні шляхи виведення продуктів біорезорбції – через нирки і печінку. Підвищення вмісту мікроелементів у всіх органах і тканинах могло бути і однією з причин активації ферментів, що беруть участь у окислювально-відновлювальних процесах організму, яка спостерігалась при імплантації розроблених матеріалів.

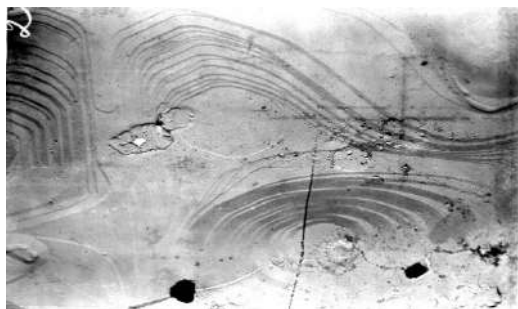


Рис. 1 – Мікроструктура кальційфосфатного матеріалу на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ після термообробки при 1200 °C, $\times 32000$.

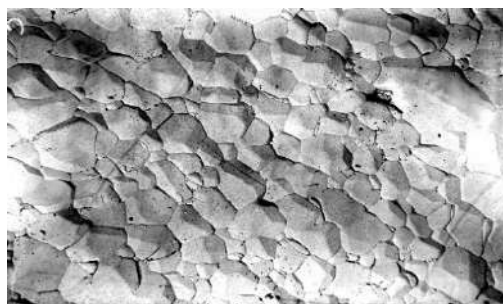


Рис. 2 – Мікроструктура кальційфосфатного матеріалу на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ після термообробки при 1200 °C, $\times 32000$.



Рис. 3 – Мікроструктура кальційфосфатного матеріалу на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ після 7 діб випробувань *in vivo*, $\times 32000$.

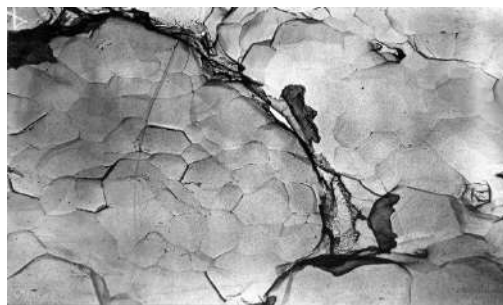


Рис. 4 – Мікроструктура кальційфосфатного матеріалу на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ після 14 діб випробувань *in vivo*, $\times 32000$.



Рис. 5 – Мікроструктура кальційфосфатного матеріалу на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ після 21 діб випробувань *in vivo*, $\times 32000$.

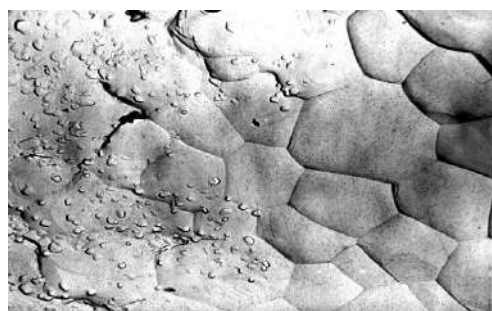


Рис. 6 – Мікроструктура кальційфосфатного матеріалу на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ після 21 діб випробувань *in vivo*, $\times 32000$.

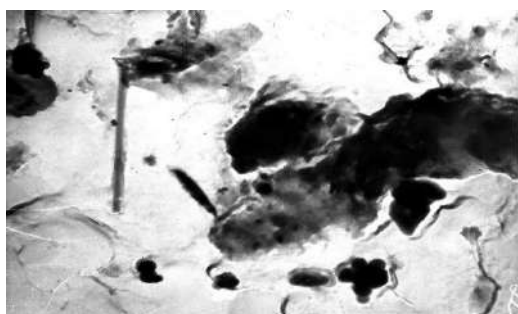


Рис. 7 – Мікроструктура кальційфосфатного матеріалу на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ після 28 діб випробувань *in vivo*, $\times 32000$.



Рис. 8 – Мікроструктура кальційфосфатного матеріалу на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ після 28 діб випробувань *in vivo*, $\times 32000$.

Таблиця 1 – Дослідження динаміки фонду мікроелементів при імплантації біокераміки in vivo

№	Матеріал	Орган	Мікроелементи, М + m , усл. од. екст.			
			Cu	Zn	Mg	K
1	1	Серце	0,454 ± 0,043	0,554 ± 0,662	8,941 ± 0,056	135,357 ± 88,21↓
2	2		0,498 ± 0,048	0,763 ± 0,091	0,992 ± 0,057	144,813 ± 5,614↓
3	3		0,428 ± 0,036	0,472 ± 0,033	1,128 ± 0,123	149,288 ± 7,33
4	1	Печінка	0,762 ± 0,140 ↑	1,904 ± 0,220 ↑	2,034 ± 0,201 ↑	133,21 ± 6,814↑
6	2		0,717 ± 0,058 ↑	2,242 ± 0,160 ↑	1,664 ± 0,152	40,415 ± 7,212↑
7	3		0,576 ± 0,028 ↑	1,304 ± 0,083	1,687 ± 0,125	28,731 ± 3,522
8	1	Нирки	0,184 ± 0,012	1,090 ± 0,079	0,746 ± 0,046	133,216 ± 6,415
9	2		0,191 ± 0,017	0,988 ± 0,091	0,712 ± 0,051	139,573 ± 8,917
10	3		0,214 ± 0,014	0,801 ± 0,066	1,169 ± 0,082	123,570 ± 7,850
11	1	Мозок	0,253 ± 0,032	1,215 ± 0,051 ↑	0,650 ± 0,052 ↓	128,413 ± 5,914
12	2		0,188 ± 0,011	1,131 ± 0,069 ↑	0,659 ± 0,059 ↓	132,562 ± 9,718
13	3		0,241 ± 0,029	0,677 ± 0,061	0,770 ± 0,061	111,295 ± 5,301
14	1	Легені	0,188 ± 0,015	0,834 ± 0,068 ↑	0,515 ± 0,090 ↑	138,496 ± 8,311
15	2		0,169 ± 0,022	0,721 ± 0,091 ↑	0,272 ± 0,021 ↓	140,215 ± 5,413
16	3		0,173 ± 0,009	0,599 ± 0,039	0,353 ± 0,025	115,706 ± 6,317
17	1	Селезінка	0,191 ± 0,080	0,556 ± 0,065	1,887 ± 0,156	129,314 ± 7,516
18	2		0,204 ± 0,075	0,599 ± 0,028	1,111 ± 0,074 ↑	133,418 ± 6,841
19	3		0,268 ± 0,013	0,494 ± 0,040	0,943 ± 0,090	124,802 ± 8,315
№	Матеріал	Орган	Мікроелементи, М + m , усл. Од. екст.			
			Na	Ca	Fe	P
1	1	Серце	61,357 ± 4,170↓	0,628 ± 0,086 ↓	15,821 ± 1,161↓	35,357 ± 0,821 ↓
2	2		90,720 ± 3,138↑	0,655 ± 0,060 ↓	16,716 ± 0,792↓	44,813 ± 0,514 ↓
3	3		79,911 ± 3,497	0,739 ± 0,557	17,101 ± 1,365	49,288 ± 7,33
4	1	Печінка	95,298 ± 12,76↑	0,876 ± 0,111 ↑	32,463 ± 2,360↑	133,21 ± 6,814↑
6	2		147,29 ± 11,70↑	0,995 ± 0,072 ↑	31,720 ± 3,138↑	40,415 ± 7,212↑
7	3		83,876 ± 3,497	0,335 ± 0,033	33,400 ± 3,191	28,731 ± 3,522
8	1	Нирки	117,27 ± 12,20↑	0,885 ± 0,140	25,961 ± 6,324↑	133,216 ± 6,415
9	2		120,60 ± 9,992↑	0,896 ± 0,082	16,678 ± 3,388	139,573 ± 8,917
10	3		94,886 ± 3,926	0,932 ± 0,120	16,763 ± 2,324	123,570 ± 7,850
11	1	Мозок	112,03 ± 7,861↑	0,964 ± 0,061	11,815 ± 0,934	128,413 ± 5,914
12	2		100,94 ± 4,774↑	0,830 ± 0,131	11,366 ± 2,362	132,562 ± 9,718
13	3		74,946 ± 6,828	0,999 ± 0,185	12,676 ± 1,341	111,295 ± 5,301
14	1	Легені	114,431 ± 20,63	1,615 ± 0,224 ↑	28,560 ± 4,396	138,496 ± 8,311
15	2		114,755 ± 4,14	1,533 ± 0,264 ↑	19,625 ± 1,651	140,215 ± 5,413
16	3		98,895 ± 7,44	1,170 ± 0,091	23,126 ± 1,885	115,706 ± 6,317
17	1	Селезінка	69,78 ± 16,418↓	0,365 ± 0,042	48,596 ± 2,114	129,314 ± 7,516
18	2		96,253 ± 23,388	0,474 ± 0,037	79,886 ± 5,321	133,418 ± 6,841
19	3		106,188 ± 3,911	0,416 ± 0,029	52,871 ± 7,719	124,802 ± 8,315

Примітки до таблиці 1: 1 – матеріал на основі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, 2 - матеріал на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 3 – контроль
 ↑ - збільшення показника ($P > 0,05$), ↓ - зменшення показника ($P < 0,05$)

Проведення повного комплексу медико-біологічних досліджень розроблених матеріалів оптимальних складів виявило відсутність будь-яких негативних реакцій в прилеглих тканинах і специфічних віддалених наслідків впливу. Тому вони можуть бути використані для тканинної інженерії і для реконструкції дефектів скелету, і в якості неорганічних наповнювачів філерів для восповнення пошкоджених або втрачених м'язових тканин.

Висновки

В процесі синтезу кальційфосфатних матеріалів визначено, що для синтезу трьохкальцієвого фосфату $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_3$ біомедичного призначення не підходить $\text{Ca}(\text{OH})_2$ марки «ч», який містить побічні фази: це призводить до появи небажаних домішок у його складі. Показана необхідність попереднього синтезу трьохкальцієвого фосфату $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ високої чистоти, що забезпечується використанням H_3PO_4 і $\text{Ca}(\text{OH})_2$ марок «ч.д.а.» або «х.ч.». Визначено оптимальне співвідношення компонентів з урахуванням летючості сполучень фосфору, що використовуються, і режими термообробки шихт.

Встановлено, що біокераміка на основі $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_3$ і $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ може бути отримана термообробкою при температурі 1100 – 1200 °C суміші попередньо синтезованих компонентів. Виявлено позитивний вплив домішки стеарату магнію на низькотемпературну активацію процесу синтезу нанокристалічних структур.

Визначені оптимальні склади і температури випалу синтетичних нанокристалічних матеріалів як з регульованою швидкістю біорезорбції, так і з підвищеною стійкістю до розчинення тканинними рідинами організму, а також з керованими шляхами виводу метаболітів.

Встановлено особливості процесу біорезорбції розроблених кальційфосфатних матеріалів шляхом вивчення зміни поверхні зразків після випробувань *in vivo* за допомогою електронної мікроскопії.

Встановлено динаміку вмісту метаболітів синтезованих матеріалів і мікроелементів в органах і тканинах піддослідних тварин. Виявлене підвищення вмісту кальцію у нирках і печінці піддослідних тварин свідчить про шляхи виведення продуктів біорезорбції.

Виявлено зв'язок підвищення вмісту мікроелементів в тканинах з інтенсивною біорезорбцією імплантованих матеріалів, що може бути однією з причин активації ферментів, що беруть участь у окислювально-відновлювальних процесах організму при імплантації розроблених матеріалів.

Визначено, що синтезовані матеріали є перспективними для тканинної інженерії: за своїм хімічним складом і біологічними властивостями вони можуть бути використані і для восповнення дефектів кісткових тканин, і у якості неорганічних наповнювачів матеріалів для восповнення нестачі м'язових тканин.

Впровадження розробленої технології буде сприяти вирішенню проблеми забезпечення сучасними матеріалами відновлювальної хірургії і одночасно дозволить вирішити глобальну проблему соціальної екології – підвищити якість життя великої кількості людей з паталогічною чи віковою втратою м'язових тканин чи тканин скелету.

Список літератури

1. **Hench, L. L.** Third-Generation Biomedical Materials / **Larry L. Hench, Julia M. Polak** // *Science*. – 2002. – Vol. 295, Issue 5557. – P. 1014-1017. – doi: 10.1126 / science. 1067404.
2. **Hench, L. L.** Bioceramics: From concept to clinic / **Larry L. Hench** // *J. Amer. Ceram. Soc.* – 1991. – Vol. 74. – P. 1487-1510. – doi: 10.1111 / j.1151-2916.1991.tb07132.x.
3. **Logeart-Avramoglou, D.** Engineering bone: Challengez and abstracles / **D. Logeart-Avramoglou, F. Anagnoston, R. Bizios, H. Petite** // *J. Cell. Mol. Med.* – 2005. – Vol. 9. – P. 72-84.
4. **Барінов, С. М.** Биокерамика на основе фосфатов кальция / **С. М. Барінов, В. С. Комлев**. – М.: Наука, 2005. – 204 с.
5. **Stock, V. A.** Tissue engineering: Current state and prospects / **V. A. Stock, J. P. Vacanti** // *Annu Rev. Med.* – 2001. – Vol. 52. – P. 443-451. – doi: 10.1146 annurev.med.52.1.443.
6. **Solgado, A. J.** Bone tissue engineering: State of art and future trend / **A. J. Solgado, O. P. Coutinho, R. L. Reis** // *Macromol. Biosci.* – 2004. – Vol. 4. – P. 743-765.
7. **Laudadio, P.** Bioceramics and human body / **P. Laudadio, L. Prestige, A. Revaglioli, R. Martinetti** // *Proc. Int. Congr., Faenza, 2-5 Apr., 1991, London; New York, 1992.* – P. 486-490.
8. **Liu, X.** Polymeric scaffold for bone tissue engineering / **X. Lin, P. X. Ma** // *Annals of Biomedical Engineering*. – 2004. – Vol. 32, Issue 3. – P. 477-486.
9. **Лукьянченко, В. В.** Металлы в имплантологии / **В. В. Лукьянченко, М. Г. Малясова** // *Ортопедия, травматологи и протезирование*. – 2008. – Issue 4. – P. 5-14.
10. **Gross, K. A.** Biomedical Application of Apatites / **K. A. Gross, C. C. Borndt** // *Reviews in mineralogy and geochemistry*. – 2002. – Vol. 48, Issue 1. – P. 631-672.
11. **Топу, Н.** Керамика, упрочненная монокристаллами и способ её изготовления / **Н. Топу** // Заявка 2124775, Япония С 04 В заявл. 3.8.7.89; Опул. 14.5.90 Кокай токкё кого. Серия 3 (1). – 1990. – Vol. 28. – С. 429-434.
12. **De With, G.** Metal fibre reinforced hydroxyapatite ceramics / **G. De With, A. J. Corbijn** // *J. Mater. Soc.* – 1989. – Vol. 2, Issue 9. – P. 3411-3415.
13. **McGhee, T. D.** A biologically active ceramic/ceramic composite for bone and tooth prostheses / **T. D. McGhee** // *Int. Ceram. Sci. and Technol. Congr., Anaheim, Calif., Oct. 31 – Nov. 3, 1989: Meet. Abstr. – [Columbus (Ohio)], – 1989.* – P. 5.
14. **Silva, V. V.** Hydroxyapatite-zirconium composites prepared by precipitation method // **Vivien V. Silva, Rosana S. Domingues** // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 1997. – Vol. 8. – P. 907-910.
15. Патент 17276 UA С 04 В 35/80 Кераміка для поповнення дефектів кісткової тканини, зміцнена монокристаллами, і спосіб її виготовлення / **Бережний А. С., Кривільова С. П., Жуков В. І.** (UA), заявл. 31.07.95 N95073573; опубл. 31.10.97.

16. Ковалева, Е. С. Биорезорбируемые порошковые материалы на основе $\text{Ca}_{10-x}\text{Na}_x(\text{PO}_4)_6(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_2$ / Е. С. Ковалева, Я. Ю. Филиппов, В.И. Путляев, Ю. Д. Третьяков, В. К. Иванов, Н. И. Силкин, Л. Ф. Галиуллина, А. А. Родионов, Г. В. Мамин, С. Б. Орлинский, М. Х. Салахов // *Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки*. – 2010. – Том. 152, кн 1. – Р. 80-98.
17. Goloshchapov, D. L. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by precipitation using when's eggshell / D. L. Goloshchapov // *Ceramics International*. – 2013. – Vol. 39, Issue 4. – Р. 4539-4549.
18. Товстоног, Г. Б. Структура и свойства биогенной гидроксилатаптитовой керамики микроволнового и обычного спекания / Г. Б. Товстоног, О. Е. Сыч, В. В. Скороход // *Порошковая металлургия и металлокерамика*. – 2015. – 2002. – Vol. 53, Issue 9-10. – Р. 566-573.
19. Дубок, В. А. Біокераміка - вчора, сьогодні, завтра / В. А. Дубок // *Порошкова металлургия*. – 2000. – Issue 7/8. – Р. 69-87.
20. Beleznyay, K. Vascular compromise from Soft tissue augmentation / K. Beleznyay, S. Humphrey, I. Carruthers, A. Carruthers // *J. Clin. Aesthetic Dermatology*. – 2014, No.7. – Р. 37-43.
21. Funt, D. Dermal fillers in aesthetics: an overview of adverse events and treatment approaches / D. Funt, T. Pavicic // *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* – 2013. – Vol. 12, No 6. – Р. 295-316. – doi: 10.2147/CCID.S50546.
22. Cox, S. E. Complications of injectable fillers and neurotoxins / S. E. Cox, C. G. Adigun // *Dermatologic Ther.* – 2011. – Vol 24, No 6. – Р. 524-536. – doi: 10.1111/j.1529-8019.2012.01455.x.
23. Beer, K. Relationship between delayed reactions to dermal fillers and biofilm: facts and considerations / K. Beer, R. Avelar // *Dermatological Surgery* 2014. – Vol. 40, No 11. – Р. 1175-1179. – doi: 10.1097/01.
24. Hamilton, D. R. Skin augmentation and correction: the new generation of dermal fillers – A dermatologist's experience / D. R. Hamilton // *Clinics in Dermatology*. – 2009. – Vol. 27, – S. 12-22. – doi: http://dx.doi.org /10.1016/ j. clindermatol. 2008.12.001.
25. Jacovella, P. F. Calcium hydroxyapatite facial filler (Radiesse): indications, technique, and results / P. F. Jacovella // *Clin. Plast. Surg.* – 2006. – Vol. 33, – Р. 511 – 523. – doi: 10.1016/j.cps.2006.08.002.
26. Berlin, L. Calcium hydroxyapatite for facial rejuvenation / L. Berlin, J. L. Cohen, D. J. Goldber // *Semin Cutan Med. Surg.* – 2006. – Vol. 25, – Р. 132 – 137. – doi: 10.1111/j.1524-4725.2008.34245.x.
27. Jarcho, M. Biomaterial aspects of calcium phosphates. Properties and applications / M. Jarcho // *Dent. Clin. North Am.* – 1986. – Vol. 30, – Р. 25-47.
28. Lemperle, G. Human histology 66 persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation / G. Lemperle, V. Morhenn, U. Carrier. *Aesthetic Plast. Surg.* – 2003. – Vol. 27, – Р. 354-366. – doi:10.1007 / s00266-003-3022-1.
29. Reddi, S. P. Hydroxyapatite cement in craniofacial trauma surgery: indication and early experience / S. P. Reddi, M. R. Stevens, S. N. Kline, P. Villanueva. // *J. Craniomaxillofac Trauma*. – 1999. N 5. – Р. 7-12.
30. Mayer, R. D. Multicenter prospective randomized 52-week trial of calcium hydroxyapatite versus bovine dermal collagen of stress urinary incontinence / R. D. Mayer, R. R. Dmochowski, R. A. Appell et al. // *Urology*. – 2007. – Vol. 60, – Р. 876-880.
31. Dirim, A. Renal transplant outcome after endoscopic treatment of vesicoureteral reflux using the subureteric injection of calcium hydroxyapatite / A. Dirim, H. Celik, E. Hasirci et al. // *Exp. Clin. Transplant*. 2008. – No. 8. (1) – Р. 45-48.
32. Sipp, J. A. Injection pharyngoplasty with calcium hydroxyapatite for treatment of velopalatal insufficiency / J. A. Sipp, J. Ashland, C. J. Hartnick // *Arch. Otolaryngol. Head Neck. Surg.* – 2008. – Vol. 134 (3). – Р. 268-271. – doi: 10.1001/archotol. 134.3.268.
33. Carroll, T. L. Long-term results of calcium hydroxyapatite for vocal fold augmentation / T. L. Carroll, C. A. Rosen // *Laryngoscope*. – 2011. – Vol. 121, No 2. – Р. 313 – 319. – doi: 10.1002/lary.21258.
34. Rauschmann, M. Bioceramic vertebral augmentation with a calcium sulphate/hydroxyapatite composite (Cerament Spine Support): in vertebral compression fractures due to osteoporosis / M. Rauschmann, T. Vogel, A. Verheyden et al. // *Eur. Spine J.* – 2010. – Vol. 19 (6). – Р. 887 – 892. – doi: 10.1007/s00586-010-1279-z.
35. Хон, В. Э. Влияние степени замещения кальция серебром в трёхкальциевом фосфате на его биологические свойства in vitro / В. Э. Хон, Н. В. Загородный, В. С. Комлев и др. // *Вестник травматологии и ортопедии имени н.н. Приорова*. – 2013. – N. 4. – Р. 23 – 28.
36. Feeney, J. N. Radiological impact of the use of calcium hydroxyapatite dermal filler / J. N. Feeney, J. J. Fox, T. Akhurst // *Clin. Radiol.* – 2009. – Vol. 64 (9). – Р. 887-892. – doi: 10.1016/j.crad. 2009. 05.004.
37. Кривилева, С. П. Исследование возможности синтеза гидроксилатаптита для медицинского назначения из растворов и гидротермальным методом [Текст] / С. П. Кривилева // *Вестник НТУ «ХПИ»*. – 2015. – N.50, Серия: «Химия, химическая технология и экология». – С. 41-47.
38. Кривильцова, С. П. Нанокристалічна біокераміка апатитного складу і її синтез / С. П. Кривилева // *Комунальне господарство міст*. – 2017. – N 137.- Серія: «Нові матеріали і технології 201. – С. 93-97.

Bibliography (transliterated)

1. Hench, L. L. Third-Generation Biomedical Materials. *Science*, 2002, **295** (5), 1014-1017. – doi: 10, 1126 / science, 1067404.
2. Hench, L. L. Bioceramics: From concept to clinic. *J. Amer. Ceram. Soc.*, 1991, **74**, 1487-1510. – doi: j.1151-2916.1991. tb07132.x.
3. Logeart-Avramoglou, D., Anagnoston, F., Bizios, R., Petite, H. Engineering bone: Challengez and abstracles. *J. Cell. Mol. Med.*, 2005, **9**, 72-84.
4. Barinov, S. M., Komlev, V. S. Biokeramika na osnove fosfatov kal'tsiya [Calcium phosphate based bioceramics]. Moscow: Nauka Publ., 2005, 204 p.
5. Stock, V. A., Vacanti, J. P. Tissue engineering: Current state and prospects. *Annu Rev. Med.*, 2001, **52**, 443-451. – doi: 10.1146 annurev.med.52.1.443.
6. Solgado, A. J., Coutinho, O. P., Reis, R. L. Bone tissue engineering: State of art and future trend. *Macromol. Biosci.*, 2004, **4**, 743-765.
7. Laudadio, P., Prestige, L., Revaglioli, A., Martinetti, R. Bioceramics and human body. Proc. Int. Congr., Faenza, 2-5 Apr., 1991, London; New York, 1992, 486-490.

8. **Liu, X., Ma, P. X.** Polymeric scaffold for bone tissue engineering. *Annals of Biomedical Engineering*, 2004, **32** (3), 477-486.
9. **Lukyanchenko, V. V., Malyasova, M. G.** Metally v implantologii [Metals in implantology] *Ortopediya, travmatologi i protezirovaniye*. [Orthopedics, traumatologists and prosthetics], 2008, **4**, 5-14.
10. **Gross, K. A.** Biomedical Application of Apatites. *Reviews in mineralogy and geochemistry*, 2002, **48** (1), 631-672.
11. **Топу, Н.** Керамика, упрочненная монокристаллами и способ её изготовления / **Н. Топу** // Заявка 2124775, Япония С 04 В заявл. 3.8.7.89; Оpubл. 14.5.90 Кокай токкё кого. Серия 3 (1). – 1990. – Vol. **28**. – С. 429 – 434.
12. **De With, G.** Metal fibre reinforced hydroxyapatite ceramics. *J. Mater. Soc.*, 1989, **2** (9), 3411-3415.
13. **McGhee, T. D.** A biologically active ceramic/ceramic composite for bone and tooth prostheses. Ist. Int. Ceram. Sci. and Technol. Congr., Anaheim, Calif., Oct. 31 – Nov. 3, 1989: Meet. Abstr. [Columbus (Ohio)], 1989, 5.
14. **Silva, V. V.** Hydroxyapatite-zirconium composites prepared by precipitation method. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 1997, **8**, 907-910.
15. Pat. No. 17276, UA, С 04 В 35/80 Керамика dlya popovnennya defektiv kistkovoyi tkany, posylenoyi monokrystalamy ta sposobom yiyi vyhotovlennya [Ceramics for replenishing bone defects changed by single crystals, and the method of its manufacture] / **Berezhny A.S., Krivileva S. P., Zhukov V.I.** (UA), zayav. 31.07.95, N95073573; opubl. 31.10.97.
16. **Kovaleva, E. S., Rhiplov, Ya. Ya., Putlyayev, V. I., Tretyakov, Yu. D., Ivanov, V. K., Silkin, N. I., Galiullina, L.F., Rodionov, A. A., Mamin, G. V., Orlinskii, S. B., Salakhov, M. Kh.** Biorezorbiruemye poroshkovye materialy na osnove $\text{Ca}_{10-x}\text{Na}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_2$ [Bioresorbable powdered materials based on $\text{Ca}_{10-x}\text{Na}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_2$]. Kazan univ. Publ., *Seria: natural Sciences*, 2010, **152**, book 1, 80-98.
17. **Goloshchapov, D. L.** Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by precipitation using when's eggshell. *Ceramics International*, 2013, **39** (4), 4539-4549.
18. **Tovstonoh, H. B., Sych, O. E., Skorokhod, B. B.** Struktura ta vlastyosti biohennoyi hidroksylapatytovoyi keramiky mikrokhvyl'ovoho ta zvychnyoho spekannya [Structure and properties of biogenic hydroxylapatite ceramics of microwave and ordinary sintering]. *Poroshkovaya metallurgiya i metallokeramika* [Powder metallurgy and cermets], 2015, **53** (9-10), 566-573.
19. **Dubok, V. O.** Biokeramika - Vchora, s'ohodni, zavtra [Bioceramics - Yesterday, Today, Tomorrow] *Poroshkova metallurhiya* [Powder metallurgy], 2000, **7/8**, 69-87.
20. **Beleznyay, K., Humphrey, I., Carruthers, A.** Vascular compromise from Soft tissue augmentation. *J. Clin. Aesthetic Dermatology*, 2014, **7**, 37-43.
21. **Funt, D., Pavicic, T.** Dermal fillers in aesthetics: an overview of adverse events and treatment approaches, *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol*, 2013, **12** (6), 295-316. – doi: 10.2147/CCID.S50546.
22. **Cox, S. E.** Complications of injectable fillers and neurotoxins. *Dermatologic Ther.*, 2011, **24** (6), 524-536. – doi: 10.1111/j.1529-8019.2012.01455.x.
23. **Beer, K., Avelar, R.** Relationship between delayed reactions to dermal fillers and biofilm: facts and considerations. *Dermatological Surgery*, 2014, **40** (11), 1175-1179. – doi: 10.1097/01.
24. **Hamilton, D. R.** Skin augmentation and correction: the new generation of dermal fillers – A dermatologist's experience. *Clinics in Dermatology*, 2009, **27**, 12-22. – doi: 10.1016/j.clindermatol.2008.12.001.
25. **Jacovella, P. F.** Calcium hydroxyapatite facial filler (Radiess): indications, technique, and results. *Clin. Plast. Surg.*, 2006, **33**, 511-523. – doi: 10.1016/j.cps.2006.08.002.
26. **Berlin, L., Cohen, J. L., Goldber, D. J.** Calcium hydroxyapatite for facial rejuvenation. *Semin Cutan Med. Surg.*, 2006, **25**, 132-137. – doi: 10.1111/j.1524-4725.2008.34245.x.
27. **Jarcho, M.** Biomaterial aspects of calcium phosphates. Properties and applications. *Dent. Clin. North Am.*, 1986, **30**, 25-47.
28. **Lemperle, G., Morhenn, V., Carrier, U.** Human histology 66 persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic Plast. Surg.*, 2003, **27**, 354-366. – doi:10.1007/s00266-003-3022-1.
29. **Reddi, S. P., Stevens, M. R., Kline, S. N., Villanueva, P.** Hydroxyapatite cement in craniofacial trauma surgery: indication and early experience. *J. Craniomaxillofac Trauma*, 1999, **5**, 7-12.
30. **Mayer, R.D., Dmochowski, R.R., Appell, R.A.** et al. Multicenter prospective randomized 52-week trial of calcium hydroxyapatite versus bovine dermal collagen of stressurinary incontinence. *Urology*, 2007, **60**, 876-880.
31. **Dirim, A., Celik, H., Hasirci, E.** et al. Renal transplant outcome after endoscopic treatment of vesicoureteral reflux using the subureteric injection of calcium hydroxyapatite. *Exp. Clin. Transplant.*, 2008, **8** (1), 45-48.
32. **Sipp, J. A., Ashland, J., Hartnick, C. J.** Injection pharyngoplasty with calcium hydroxyapatite for treatment of velopalatal insufficiency. *Arch. Otolaryngol. Head Neck. Surg.*, 2008, **134** (3), 268-271. – doi: 10.1001/archotol.134.3.268.
33. **Carroll, T. L., Rosen, C. A.** Long-term results of calcium hydroxyapatite for vocal fold augmentation. *Laryngoscope*, 2011, **121** (2), 313-319. – doi: 10.1002/lary.21258.
34. **Rauschmann, M., Vogel, T., Verheyden, A.** et al. Bioceramic vertebral augmentation with a calcium sulphate/hydroxyapatite composite (Cerament Spine Support): in vertebral compression fractures due to osteoporosis. *Eur. Spine J.*, 2010, **19** (6), 887-892. – doi: 10.1007/s00586-010-1279-z.
35. **Hon, V. E., Zagorodniy, N. V., Komlev, V. S.** at al. Vliyanye stepeny zameshcheniya kaltsiya s serebrom v trekhkaltsyevom fosfate na eho byolohycheskiye svoystva in vitro [Influence of the degree of substitution of calcium with silver in calcium phosphate on its biological properties in vitro] *Bulletin of Traumatology and Orthopedics named after N.N. Priorova*, 2013, **4**, 23-28.
36. **Feeney, J. N., Fox, J. J., Akhurst, T.** Radiological impact of the use of calcium hydroxyapatite dermal filler. *Clin. Radiol.*, 2009, **64** (9), 887-892. – doi: 10.1016/j.crad.2009.05.004.
37. **Krivileva, S. P.** Yssledovanye vozmozhnosti synteza hidroksyapatyta dlia medysynskoho naznacheniya yz rastvorov y hidrotermalnym metodom [Investigation of the possibility of synthesis of hydroxyapatite for medical purposes from solutions and hydrothermal method] *Bulletin of NTU "KhPI". Series: Chemistry, chemical technology and environment*, 2015, **50** (1214), 41-47.
38. **Krivileva, S. P.** Nanokrystalichna biokeramika apatytnoho skladu i yiyi syntezy [Nanocrystalline bioceramics of apatite composition and its synthesis] **С. П. Кривилева** // *Municipal economy of cities. Serya: New materials and technologies*, Publishing house KhNAME, 2017, **137**, 93-97.

Сведения об авторах (About authors)

Кривільова Світлана Павлівна – кандидат технічних наук, доцент, Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», доцент кафедри хімічної техніки і промислової екології, м. Харків, Україна; e-mail: spkri@ukr.net.

Svetlana Krivileva – Candidate of Technical Sciences (Ph. D.), Docent, Associate Professor of Department of “Chemical Technics and Industrial Ecology”, National Technical University “Kharkiv Polytechnic Institute”, Kharkiv, Ukraine; e-mail: spkri@ukr.net.

Будь ласка, посилайтесь на цю статтю наступним чином:

Кривільова, С. П. Синтетичні нанокристалічні кальційфосфатні матеріали для восповнення дефектів кісткових и нестачі м'язових тканин та їх синтез / **С. П. Кривільова** // *Вісник НТУ «ХПІ»*, Серія: Нові рішення в сучасних технологіях. – Харків: НТУ «ХПІ». – 2017 – № 53 (1274). – С. 95-106. – doi:10.20998/2413-4295.2017.53.15.

Please cite this article as:

Krivileva, S. Synthetic nanocrystalline calcium phosphate materials for facing defects of bone and insuffication of muscular tissue and their synthesis. *Bulletin of NTU "KhPI". Series: New solutions in modern technologies.* – Kharkiv: NTU "KhPI", 2017, **53** (1274), 95–106, doi:10.20998/2413-4295.2017.53.15.

Пожалуйста, ссылайтесь на эту статью следующим образом:

Кривилёва, С. П. Синтетические нанокристаллические кальцийфосфатные материалы для восполнения дефектов костных и недостатка мышечных тканей и их синтез / **С. П. Кривилёва** // *Вестник НТУ «ХПИ»*, Серія: Новые решения в современных технологиях. – Харьков: НТУ «ХПИ». – 2017. – № 53 (1274). – С. 95-106. – doi:10.20998/2413-4295.2017.53.15.

АННОТАЦИЯ Выполнена оценка возможности использования нанокристаллических материалов кальцийфосфатного состава для восполнения дефектов костных тканей и в качестве неорганических наполнителей композиционных материалов для восполнения недостатка мышечных тканей. Определены составы, оптимальные соотношения компонентов и режимы термообработки смесей предварительно синтезованных компонентов. Выявлено положительное влияние примеси стеарата магния на низкотемпературную активацию процесса синтеза нанокристаллических структур. Методами электронной микроскопии и атомно-эмиссионного спектрального анализа исследовали микроструктуры материалов и динамику концентрации микро- и макроэлементов в органах и тканях в процессе их резорбции *in vivo*. Установлено, что по своим техническим и биологическим свойствам эти материалы перспективны для тканевой инженерии.

Ключевые слова: синтетические нанокристаллические материалы; биорезорбция; кальцийфосфаты; атомно-эмиссионный спектральный анализ; инженерия тканей; электронно-микроскопический анализ.

Поступила (received) 19.12.2017